

SYNTHETIC PEPTIDE DERIVATIVE

Publication number: JP6172387

Publication date: 1994-06-21

Inventor: YANAIHARA NOBORU; HONDA SEIJI; KUZUHA NOBORU

Applicant: AIBAITSU KK

Classification:

- International: A61K38/00; A61P25/28; A61P43/00; C07K7/08; A61K38/00; A61P25/00; A61P43/00; C07K7/00; (IPC1-7): C07K7/08; A61K37/02; C07K99/00

- European:

Application number: JP19920331327 19921211

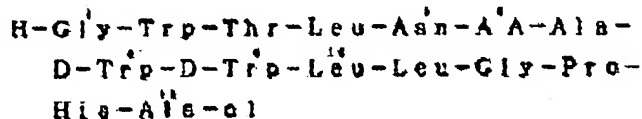
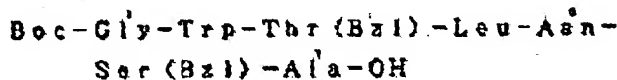
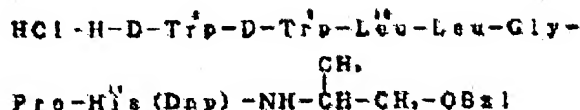
Priority number(s): JP19920331327 19921211

Report a data error here

Abstract of JP6172387

PURPOSE: To provide a synthetic peptide derivative having a specific amino acid sequence, effective for efficiently inhibiting the insulin-secretion suppressing action of galanin and expected to be useful as a galanin-antagonistic substance for the prevention and treatment of Alzheimer's dementia.

CONSTITUTION: A peptide fragment expressed by formula I (Bzl is benzyl; Dnp is protecting group) is dissolved in a mixture of dimethylformamide and dimethyl sulfoxide. The solution is incorporated with triethylamine and then a fragment of formula II under stirring and cooling with ice to effect the uniform dissolution and dispersion of the substances. The product is further incorporated with 1-hydroxybenzotriazole and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride as a condensing agent and made to react with each other by stirring for 3hr under ice cooling and for a night at room temperature. The reaction liquid is poured into ice water to separate the reaction product and the protecting group is removed to obtain the objective synthetic peptide derivative expressed by formula III (AA is Ser or D-Thr; Ala-ol is AlaOH).



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-172387

(43) 公開日 平成6年(1994)6月21日

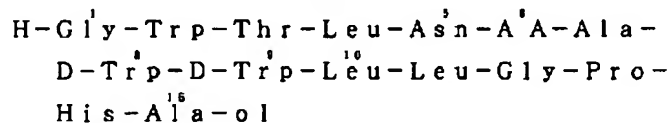
(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 7/08	Z N A	8318-4H		
A 6 1 K 37/02	A A M			
	A E D	8314-4C		
// C 0 7 K 99:00				

審査請求 未請求 請求項の数1(全10頁)

(21) 出願番号	特願平4-331327	(71) 出願人	390033927 アイバイツ株式会社 静岡県駿東郡小山町棚頭1295番地の1
(22) 出願日	平成4年(1992)12月11日	(72) 発明者	矢内原 昇 静岡県静岡市北403-22
		(72) 発明者	本 田 誠 司 静岡県御殿場市萩原1181-1
		(72) 発明者	葛 葉 昇 神奈川県足柄上郡開成町吉田島1433-6
		(74) 代理人	弁理士 鈴木 俊一郎

(54) 【発明の名称】 合成ペプチド誘導体

(57) 【要約】 * 【化1】
【構成】 *



にて示されるペプチドおよびその塩。 ※ ※ 【化2】

(ただし、 $-\text{A}^1\text{A}-$ は、 $-\text{Ser}-$ または $-\text{D}-\text{Thr}-$ を示し、
 $-\text{Ala}^1-\text{ol}$ は



【効果】 本発明に係るペプチドは、ガラニンの拮抗物質であり、ガラニンのインスリン分泌抑制作用を効果的に阻害(解除)することができるガラニンの特異的拮抗物質である。このため、ガラニンの生理作用の解明に関する研究には必須の基質となるものである。さらに、ガ

ラニンが脳海馬腹側においてアセチルコリンの分泌を抑制することが知られており、アルツハイマー型痴呆症の発症に関与することが示唆されていることから、本発明ペプチドが今後、アルツハイマー型痴呆症の予防あるいは治療薬等としての有用性がおおいに期待される。

1

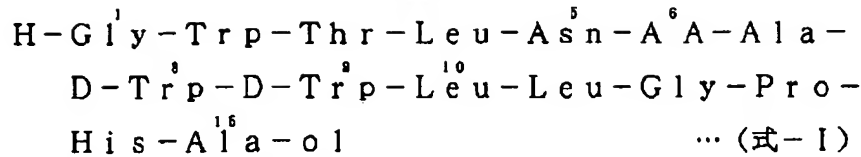
2

【特許請求の範囲】

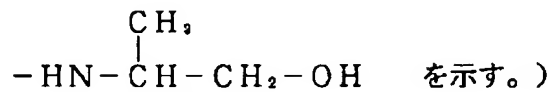
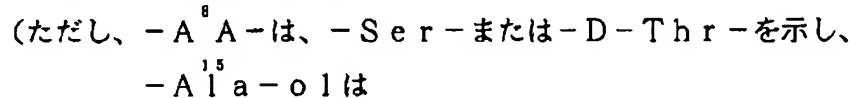
* 【化1】

【請求項1】

*



上記 (式-I) にて示されるペプチドおよびその塩。 ※ ※ 【化2】



【発明の詳細な説明】

★ 【0002】

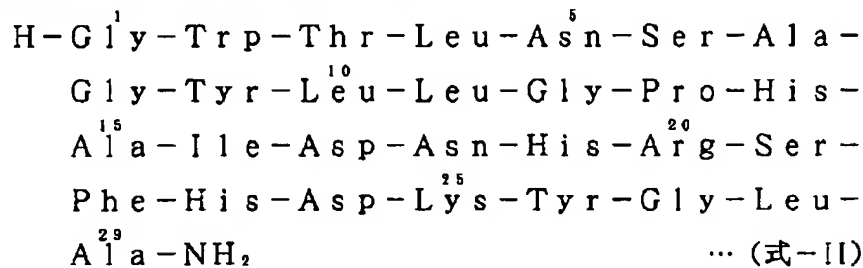
【0001】

【発明の技術分野】本発明はガラニンの拮抗物質である新規な合成ペプチド誘導体に関する。なお、本明細書において、アミノ酸、ペプチド、保護基、その他に関し
 て、略号で表示する場合はIUPAC、IUBの規定あるいは当該分野における慣用記号に従うものとする。 ★

【発明の技術的背景】ガラニンは1983年に立元らにより、ぶた上部小腸より単離された (式-II) にて表される29アミノ酸残基よりなるポリペプチドである。

20 【0003】

【化3】



(ただし、(式-II) 中 $-\text{Ala}^{28}-\text{NH}_2$ は



【0004】ガラニンの組織内分布は、免疫組織化学的研究により中枢神経および腸管、脾の末梢神経系に存在することが明らかにされ、その作用として中枢では成長ホルモン分泌亢進作用、プロラクチン分泌亢進作用、単シナプス反射抑制作用、侵害反射抑制作用等が知られ、また末梢では脾インスリン分泌抑制作用および腸管運動、筋トーンの調節に関与しているものと報告されている。

【0005】従来、上記ガラニンのグルコース刺激インスリン分泌抑制作用の阻害 (解除) 機能を有する化合物として、ガラニンフラグメントとサブスタンスPフラグメントよりなるGalantide即ち, galanin (1-12)-Pro-Substance P (5-11)-NH₂がS.Lindskog, T.Bartfai.らにより報告されている [European Journal of Pharmacology, 210

(1992)183-188] 。

【0006】しかしながらその作用、効果は充分なものではない。本発明者らは、ガラニン作用に関して種々な合成ガラニン誘導体、および合成ガラニンフラグメントのグルコース刺激インスリン分泌に及ぼす影響を検討の結果、効果的にガラニンのインスリン分泌抑制作用を阻害 (解除) する新規な合成ペプチドを見出し本発明の完成に至った。

【0007】

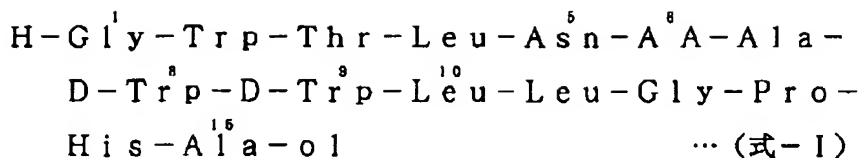
【発明の目的】本発明は、ガラニンのインスリン分泌抑制作用を効果的に阻害 (解除) する新規な合成ペプチドを提供することを目的としている。

【0008】

【発明の概要】本発明に係る合成ペプチド誘導体は、

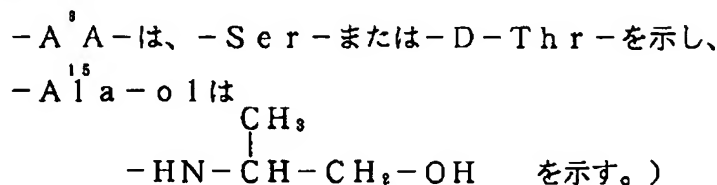
【0009】

【化4】



【0010】にて示されるペプチドまたはその塩である。 * 【0011】

(上記(式-I)において、



【0012】なお、以下の説明では、上記(式-I)で表されるペプチドにおいて、

【0013】

【化6】

$-\text{A}^6\text{A}^7$ が、 $-\text{Ser}-$ の場合には、

【0014】 $[\text{D-Trp}^{8,9}]-\text{Gal}(1-15)-\text{ol}$ と略記することがあり、

【0015】

【化7】

$-\text{A}^6\text{A}^7$ が、 $-\text{D-Thr}-$ の場合には、

【0016】 $[\text{D-Thr}^6, \text{D-Trp}^{8,9}]-\text{Gal}(1-15)-\text{ol}$ と略記することがあり、さらに上記を総称して、単に「本発明ペプチド」と呼ぶこともある。

【0017】

【発明の具体的説明】本発明ペプチドは、 $[\text{D-Trp}^{8,9}]-\text{Gal}(1-15)-\text{ol}$ または、 $[\text{D-Thr}^6, \text{D-Trp}^{8,9}]-\text{Gal}(1-15)-\text{ol}$ で表されるアミノ酸縮合体である。本発明ペプチドの構造・組成は、アミノ酸分析法、FAB質量分析、逆相HPLC分析、元素分析等の手法により確認される。

【0018】本発明ペプチドは、塩としての存在も許容され、本発明ペプチドの塩化水素酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩等も本発明の範囲に包含される。本発明ペプチドは、ガラニンの拮抗物質であり、ガラニンのインスリン分泌抑制作用を効果的に阻害(解除)することができるガラニンの特異的拮抗物質である。このため、ガラニンの生理作用の解明に関する研究には必須の基質となるものである。さらに、ガラニンが脳海馬腹側においてアセチルコリンの分泌を抑制することが知られており、アルツハイマー型痴呆症の発症に関与することが示唆されていることから、本発明ペプチドが今後、アルツ

ハイマー型痴呆症の予防あるいは治療薬等としての有用性がおおいに期待される。

【0019】次に、本発明に係るペプチドの一般的化学合成法について説明する。本発明ペプチドは、固相法・液相法を含む通常のペプチド合成法にしたがい、適宜に条件を設定することにより調製することができる。以下の説明では、主に液相法について述べるが、本発明ペプチドは液相法による生成物に限定はされない。

【0020】液相法によるペプチド合成法には、末端アミノ酸に順次1個づつアミノ酸を縮合させるステップワイズ法、数個のフラグメントに分けて縮合させていくフラグメント縮合法等があるが、操作効率等の点でフラグメント縮合法が好ましい。

【0021】縮合方法自体は公知であり、それらに用いられる試薬等も公知のものから合成条件等に応じて適宜選択される。脱水縮合剤としては、特に水溶性カルボジイミド、具体的には1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドまたはそのHCl塩が、反応収率および反応後の処理における操作が容易であるので、好ましい。

【0022】アミノ酸には反応順序にしたがって、アミノ基、カルボキシル基等の保護/脱保護が行なわれる。アミノ基の保護基は一般的に使用される保護基であり、ペプチド合成の基本構築方法によって任意に選択可能であり、代表的な保護基としてt-ブチルオキシカルボニル(Boc)基、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)基、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)基等があげられ、中でもジ-tert-butylidicarbonate $[(\text{BOC})_2\text{O}]$ により誘導されたBoc基が好ましい。アミノ酸のカルボキシル基末端の保護は、通常は末端をエステル化することにより行なわれる。その代表例としてメチルエステル、エチルエステル、フェニルエステル、ベンジルエステル、t-ブチルエステル等である。側鎖官能基を有するアミノ酸では適宜、公知の保護基により側

鎖官能基の保護が行なわれるが、反応系の適宜な選択により側鎖官能基の保護を行なわなくてもよい。

*【0024】

【化8】

【0023】本発明ペプチドの一端である

*

$-A^{16}a-o1$ は、 $-A^{15}a$ のベンジルエーテル ($-A^{15}a-OBz1$)

【0025】から、脱Bz1 (ベンジル) 反応により合成される。

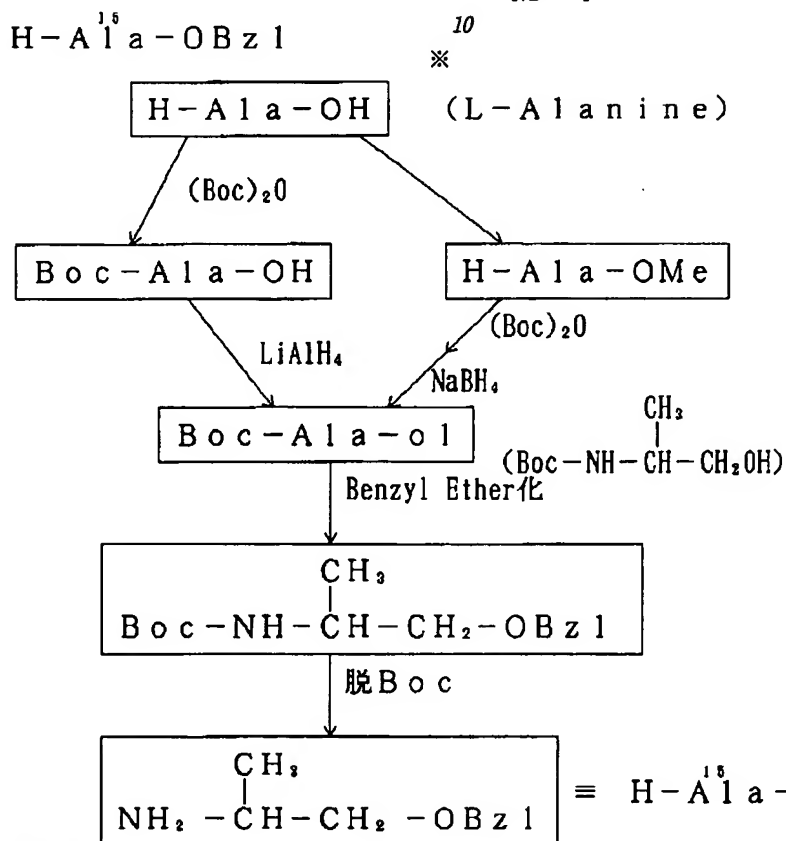
※【0027】は、下記の合成フローにしたがって得られる。

【0026】

【0028】

【化9】

【化10】



【0029】上記したような本発明ペプチドの合成に使用される反応溶媒としては、ペプチド縮合反応に通常使用される公知の各種溶媒、例えば無水ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ピリジン、クロロホルム、ジオキサン、ジクロロメタン、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、N-メチルピロリドン、ヘキサメチルリン酸トリアミドあるいはこれらの混合溶媒が使用される。

【0030】縮合温度は一般的には $-40 \sim 60^\circ C$ 、好ましくは約 $-20^\circ C$ ～約 $40^\circ C$ の範囲であり、反応時間は1～30時間である。アミノ酸またはペプチドの脱保護に関しては、公知の方法で行うことができ、例えばパラジウム、パラジウム黒等の触媒を用いる水素添加、液体アンモニア中、金属ナトリウムによる還元的方法、トリフルオロ酢酸、塩化水素酸、弗化水素酸、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、臭化水素酸等

の強酸によるアシドリシス、亜鉛末/酢酸あるいは第2級アミンによる保護基の除去等が例示される。

【0031】以上のようにして合成された(式-1)にて示されるペプチドは、反応混合物からペプチドの分離手段、例えば結晶化、抽出、分配、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、高速流体クロマトグラフィー等によって単離精製される。

【0032】

【発明の効果】本発明に係るペプチドは、ガラニンの拮抗物質であり、ガラニンのインスリン分泌抑制作用を効果的に阻害(解除)することができるガラニンの特異的拮抗物質である。このため、ガラニンの生理作用の解明に関する研究には必須の基質となるものである。さらに、ガラニンが脳海馬腹側においてアセチルコリンの分泌を抑制することが知られており、アルツハイマー型痴呆症の発症に関与することが示唆されていることから、

本発明ペプチドが今後、アルツハイマー型痴呆症の予防あるいは治療薬等としての有用性がおいに期待される。

【0033】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本実施例に限定されるものではない。なお、以下の実施例において得られたペプチドの評価は、次のようにして行なった。

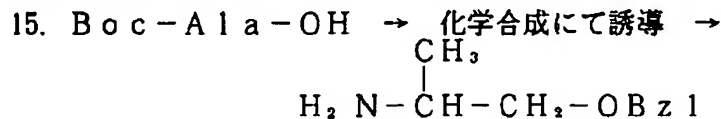
【0034】

【ラット単離群灌流法】体重約250gのウイスター系雄性ラットを用い、約24時間絶食した後、ペントバルビタール50mg/kg腹腔内投与により麻酔、Grodskyらの方法に準じて脾を摘出し、灌流標本を作成した。灌流液には、95% O₂ - 5% CO₂ で飽和し、4%デキストランT-70 (名糖産業、名古屋)、0.2%ウシ血清アルブミン (BSA) (Sigma、米国) および5mMグルコースを含むKrebs-Ringer bicarbonate緩衝液 (pH7.4) を用いた。単離群は腹腔動脈に挿入したカニユーレより1.9ml/分の流速で灌流し、インスリンの基礎分泌が安定した後、本発明ペプチド (10⁻⁷M) を側管からインヒュージョンポンプ (Harvard Apparatus, Model 975, 米国) にて0.1ml/分の流速で注入した。本発明ペプチドを10分間投与した後、本発明ペプチドと同時に側管より、合成ラットガラニン (10⁻⁹M) および13.9mMグルコースを20分間持続注入した。

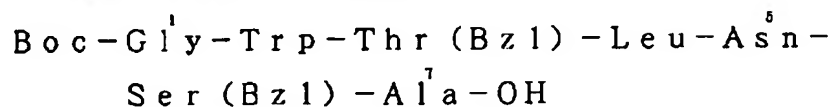
【0035】門脈へ挿入したカニユーレよりの流出液は1分ごとにアプロチニン (1000KIU/tube) (Novo Research Institute, デンマーク) を添加したガラス試験管に氷冷下で採取し、インスリン測定まで-20℃にて凍結保存した。

【0036】

【インスリン特異ラジオイムノアッセイ系法】標準希釈液として、0.5%BSA、25mM EDTA、0. *



【0040】液相法によるペプチド合成の具体的手順は図1に示した。反応条件等については詳述しないが、これらは当業者が適宜に設定しうる範囲である。以下、1~7位のアミノ酸を縮合して得られたフラグメント [A] と、8~15位のアミノ酸を縮合して得られたフラグメント [B] との反応による本発明ペプチドの合成※



【0042】フラグメント [B]

【0043】

* 14M NaClを含む0.01Mリン酸緩衝液 (pH7.4)、標準抗原にラットインスリン (Novo Research Institute, デンマーク) を用い、抗血清としてモルモット抗ブタインスリン血清 (最終希釈濃度160000倍)、標準抗原として¹²⁵I-ブタインスリン (ダイナボット社、東京) を用いて行なった。

【0037】

【統計処理】各群5匹ずつの免疫活性インスリン (IRI) 放出総量を対照群と比較した。推計学的処理には、Student の t 検定を用い、5%未満の危険率をもって有意とした。

【0038】

【実施例1】

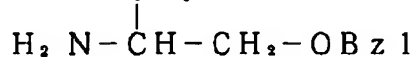
「[D-Trp^{8,9}]-Gal(1-15)-ol-T HF塩の合成」目的とするペプチドの合成は、フラグメント縮合法であり、アミノ酸としては、下記の保護アミノ酸を使用した。なお、左記の数字は、本発明ペプチド中におけるアミノ酸配列のポジションを示す。

1. Boc-Gly-OH
2. Boc-Trp-OH
3. Boc-Thr (Bzl)-OH
4. Boc-Leu-OH·H₂O
5. Boc-Asn-OH
6. Boc-Ser (Bzl)-OH
7. Boc-Ala-OH → H-Ala-OPac
8. Boc-D-Trp-OH
9. Boc-D-Trp-OH
10. Boc-Leu-OH·H₂O
11. Boc-Leu-OH·H₂O
12. H-Gly-OEt
13. Boc-Pro-OH
14. Boc-His (Dnp)-OH·IPA

【0039】

【化11】

化学合成にて誘導 →



※ならびにその精製について説明する。

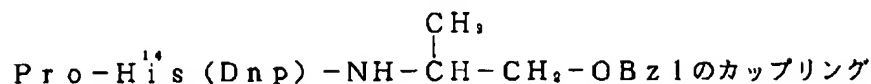
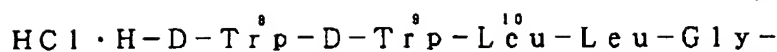
①フラグメント縮合

フラグメント [A]

【0041】

【化12】

【化13】

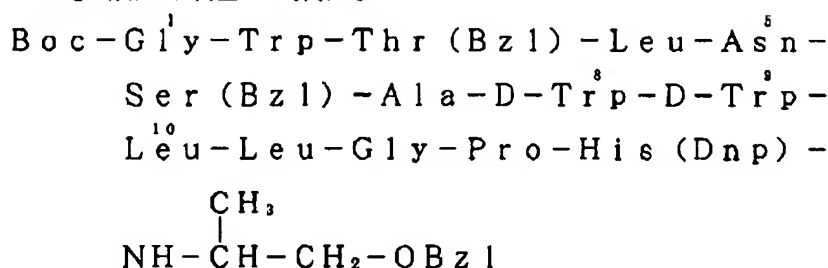


【0044】フラグメント[B] 867mg (689.3 μ mol) をジメチルホルムアミド10mlとジメチルスルホキシド2mlにて溶解し、氷冷、攪拌下、トリエチルアミン0.2ml、次いでフラグメント[A] 679mg (660 μ mol) を添加し、均一に溶解分散させ、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール134mg、および縮合剤として1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド・塩酸塩190mgを添加し、同温で3時間、その*

*後室温に戻し、一晚攪拌した。反応の完結はTLCにて確認後、反応液を氷水100ml中に注加し、結晶を析出させた。得られた結晶を1N-HClで2回、蒸留水で1回洗浄し、さらに飽和重曹水にて3回、蒸留水にて3回洗浄し、五酸化リン上で真空乾燥し、

【0045】

【化14】



【0046】(以下ペプチドAと略す。)を得た。

収量1.400g (95%)

②ペプチドAの脱Dnp

ペプチドA 1.370g (613.92 μ mol) をジ

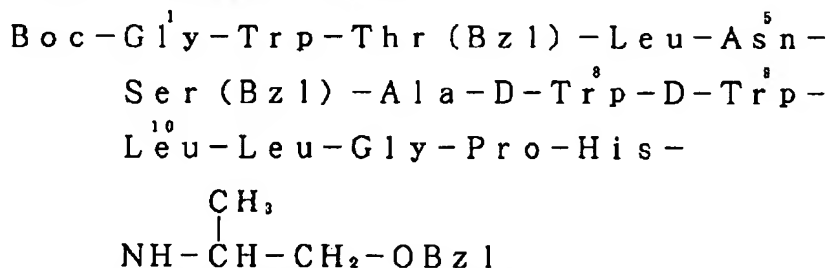
メチルホルムアミド10mlに溶解し、チオフェノール

1.1mlを添加し、室温下1.5時間攪拌した。反応の※

※完結はTLCで確認を行なった。反応液をエーテル100mlに注加し、結晶を析出させた。結晶口取後、エーテルにて十分に洗浄し、五酸化リン上にて真空乾燥させ

【0047】

【化15】



【0048】(以下ペプチドBと略す。)を得た。

収量1.237g (97.55%)

③ペプチドBの脱保護(HF処理)

ペプチドB 400mg (193.66 μ mol)、アニソール0.75ml、チオアニソール0.75mlをHF反応

装置に仕込み、HF 20mlにて0℃以下で、1時間反

応させ、その後、HFを留去し、エーテルにてデカンテ

ーションを2回行ない、次いで水、酢酸混合溶液に懸濁

させ、そのまま凍結乾燥し、目的物である[D-Trp

^{8,9}]-Gal(1-15)-olの粗体を得た。

④ペプチドの精製

上記粗ペプチドは高速分取液体クロマトグラフィーによ

り、主ピークを分取した。使用装置および条件は下記の

とおり。

【0049】

分取液クロ: ウォーターズ社 600E

分取カラム: 1" × 30cm

TOSOH, TSK gel ODS-80 TM

流出溶媒(A): 0.1% TFA (10% CH₃CN / H₂O)

流出溶媒(B): 0.1% TFA (90% CH₃CN / H₂O)

(B) / (A) 20% → 50% Linear Gradient

detection 210nm

その後、凍結乾燥して、目的物である[D-Trp^{8,9}]-Gal(1-15)-ol・THF塩の精製

物を得た。

・HPLC純度は99.1% (条件は上記に同じ)

50 ・アミノ酸分析 (日立製作所 L-8500)

11

(6N塩酸, 1%フェノール, 1%メルカプトエタノール, 110℃, 24時間)

Asp 1.01 (1)
Thr 0.94 (1)
Ser 0.91 (1)
Gly 2.00 (2)
Ala 1.00 (1)
Leu 2.97 (3)
His 1.04 (1)
Trp 2.51 (3)
Pro 1.09 (1)

() 内数字は理論値を示す。

【0050】図2に、単離ラット膵灌流系におけるラットガラニンの13.9mMグルコース刺激インスリン分泌抑制作用に及ぼす合成 $[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol$ の影響を示す。本発明ペプチド $[[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ 10^{-7} M投与により、 10^{-9} Mラットガラニンによって抑制された13.9mMグルコース刺激インスリン分泌は、第1相および第2相共顕著に回復した。

【0051】図3に、グルコース(13.9mM)単独投与(コントロール)、グルコース(13.9mM)存在下ラットガラニン(10^{-9})投与時、およびグルコース(13.9mM)、ラットガラニン(10^{-9})さらに本発明ペプチド $[[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ 10^{-7} M同時投与によるインスリン総放出量を示す。なお、図3では、グルコース単独投与時のインスリン総放出量を100として、百分率で示してある。この結果、ラットガラニン投与により51.5%に抑制されたインスリン総放出量は、本発明ペプチド $[[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ の投与により、78.0%に回復し、本発明ペプチドが本アッセイ系においてラットガラニンの作用を有意に抑制し、ガラニンの拮抗物質として作用することを明らかにした。

【0052】

【実施例2】

「 $[D-Thr^6, D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol \cdot THF$ 塩の合成」実施例1において、ボジション6の $Boc-Ser(Bzl) - OH$ の代わり
40 に、 $Boc-D-Thr(Bzl) - OH$ を使用した以

12

外は、実施例1の手法に準じて $[D-Thr^6, D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol \cdot THF$ 塩を合成した。具体的手順は、図4に示した。

・HPLC純度は99.1%(条件は上記に同じ)

・アミノ酸分析(日立製作所 L-8500)

(6N塩酸, 1%フェノール, 1%メルカプトエタノール, 110℃, 24時間)

Asp 1.01 (1)
Thr 1.95 (2)
10 Gly 2.00 (2)
Ala 1.00 (1)
Leu 2.98 (3)
His 1.03 (1)
Trp 2.52 (3)
Pro 1.08 (1)

() 内数字は理論値を示す。

【0053】図3に、本発明ペプチド $[[D-Thr^6, D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ 10^{-7} M同時投与によるインスリン総放出量を、実施例1の結果と併せて示す。この結果、ラットガラニン投与により51.5%に抑制されたインスリン総放出量は、本発明ペプチド $[[D-Thr^6, D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ の投与により、103%に回復し、本発明ペプチドが本アッセイ系においてラットガラニンの作用を有意に抑制し、ガラニンの拮抗物質として作用することを明らかにした。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、本発明ペプチド $[[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ の合成手順を示す。

【図2】 図2は、グルコース刺激インスリン分泌抑制作用に及ぼす合成 $[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol$ の影響を示す。

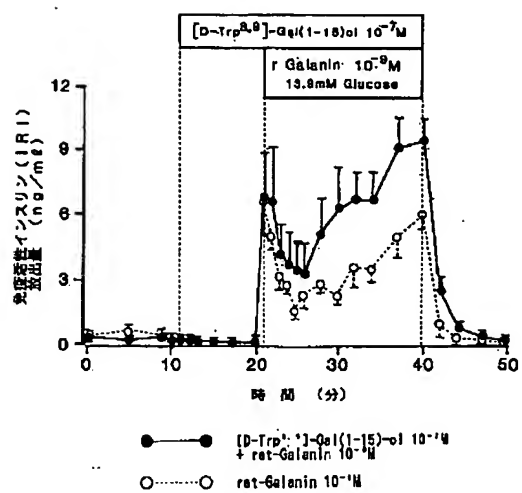
【図3】 図3は、インスリン特異ラジオリジオアッセイ系における、本発明ペプチド $[[D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ および $[D-Thr^6, D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol$ のガラニン作用抑制効果を示す。

【図4】 図4は、本発明ペプチド $[[D-Thr^6, D-Trp^{8,9}] - Gal(1-15) - ol]$ の合成手順を示す。

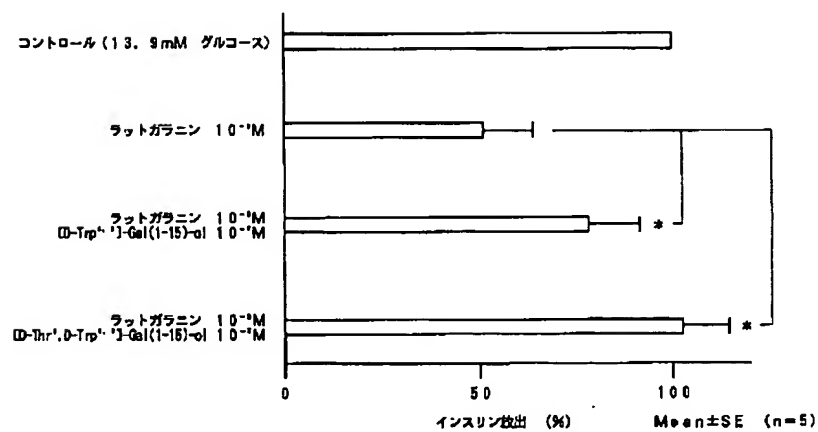
【図1】

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Gly	Trp	Thr	Leu	Asp	Ser	Ala	D-Trp	D-Trp	Leu	Leu	Gly	Pro	His	Ala ^{*)}
						Boc-OH								
						Boc-OPac								
						Bz1								
						Boc-OH	H-OPac							
						Bz1								
						Boc								
						Bz1								
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			
						Boc				Boc				
						Bz1								Boc-OH 1)
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-CH ₂ -OH 2)
						Boc				Boc				Boc-CH ₂ -OBz1 3)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 4)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 5)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 6)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 7)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 8)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 9)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 10)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 11)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 12)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 13)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 14)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 15)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 16)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 17)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 18)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 19)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 20)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 21)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 22)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 23)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 24)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 25)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 26)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 27)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 28)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 29)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 30)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 31)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 32)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 33)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 34)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 35)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 36)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 37)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 38)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 39)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 40)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 41)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 42)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 43)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 44)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 45)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 46)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 47)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 48)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 49)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 50)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 51)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 52)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 53)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 54)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 55)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 56)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 57)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 58)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 59)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 60)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 61)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 62)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 63)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 64)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 65)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 66)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 67)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 68)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 69)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 70)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 71)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac			Boc-OH	H-OEt			Boc-OH 72)
						Bz1								Dnp
						Boc								Boc-CH ₂ -OBz1 73)
						Bz1								Dnp
						Boc-OH	H-OPac							

【図2】



【図3】



【图 4】

[illegible]

*）通常のAlanineではないが便宜上 "Ala" とした。構造は以下に示した。

